

# 鳥類, 両棲類のrig遺伝子の構成と構造および哺乳類rig遺伝子との比較

著者	菅原 明
号	1068
発行年	1991
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/20462">http://hdl.handle.net/10097/20462</a>

氏 名（本籍）  
菅 原 明

学 位 の 種 類  
医 学 博 士

学 位 記 番 号  
医 博 第 1 0 6 8 号

学位授与年月日  
平 成 3 年 3 月 28 日

学位授与の条件  
学位規則第 5 条第 1 項該当

研 究 科 専 攻  
東北大学大学院医学研究科  
（博士課程）内科学系専攻

学 位 論 文 題 目  
鳥類, 両棲類のrig遺伝子の構成と構造および哺乳類rig遺伝子との比較

(主 査)  
論文審査委員  
教授 吉 永 馨 教授 林 典 夫  
教授 柴 原 茂 樹

## 論文内容要旨

rig (rat insulinoma gene) はラットインスリノーマから発見された遺伝子で、種々のヒトがんや培養細胞で高い発現が認められているほか、ラット再生肝などの正常細胞の増殖期にも発現していることが見いだされている。これまでラット、ヒト、ハムスターでrig cDNAの構造が決定され、rigは145アミノ酸からなる塩基性蛋白質をコードしており、その配列はこれらの哺乳動物で完全に一致していた。本研究で菅原は、rigの分子進化を知る目的で、種々の脊椎動物におけるrig遺伝子の構成および構造を明らかにした。すなわち、

1) ノーザン法により、哺乳類であるマウスおよび哺乳類以外の生物種である鳥類（ニワトリ）、両棲類（アフリカツメガエル）にもrig mRNA homologueが存在していることを明らかにした。  
2) マウスNIH 3T3細胞およびニワトリ、カエルの肝臓のRNAより分離したポリ（A）+RNAを鋳型としてcDNAライブラリーを作製し、ラットrig mRNAに相補的な60塩基の合成オリゴヌクレオチドをプローブに用いてスクリーニングを行った。その結果得られたクローンDNAの構造を決定したところ、哺乳類および鳥類における145アミノ酸の配列は完全に一致しており、両棲類であるカエルにおいても145アミノ酸中6残基が異なるのみであった。各動物のrig cDNAのコード域における塩基置換数をもとにrig mRNAの進化速度を算出したところ、rig mRNAの進化速度は、従来進化速度の遅い代表例とされてきた種々のmRNAに比しても非常に小さい値を示した。このことは、rig mRNAの構造が進化上非常に強い制約下に保存されてきたことを意味しており、その産物であるrig蛋白が細胞にとって必須の役割を担っていることが示唆された。  
3) 種々の脊椎動物ゲノムにおけるrig遺伝子の構成をサザン法によって分析した。各種の脊椎動物より抽出した高分子DNAを制限酵素DraIおよびBamHIで完全消化した後、作製したDNAプロットを各種のrig cDNAとハイブリダイズさせた。その結果、哺乳類においては、いずれの制限酵素消化産物でも複数のバンドが検出されたのに対し、鳥類および両棲類においては単一のバンドしか検出されなかった。したがって、rig遺伝子は、哺乳類においては偽遺伝子を含むmulti-copy gene familyを形成しているのに対し、鳥類および両棲類においては、single copy geneとして存在していることが考えられた。

4) このように異なる遺伝子構成を示すrig遺伝子およびその調節域の構造に生物種による差異がないかどうかを明らかにする目的で、鳥類rig遺伝子を単離しその構造を決定して哺乳類（ヒト）rig遺伝子の構造と比較した。ニワトリDNAを制限酵素EcoRIにて完全消化したところ8 kbpの位置に単一バンドが検出されたことから、7-9 kbpのEcoRI断片を用いてDNAライブラリーを作製し、ニワトリrig cDNAを用いてスクリーニングを行った。その結果得られたクロー

ンDNAの塩基配列を決定し、ヒトrig遺伝子の構造と比較した。ニワトリrig遺伝子は全長1.6kbpで4個のエクソンと3個のイントロンから構成されており、エクソン部分の構造と構成はヒトrig遺伝子と同一であった。イントロン部分は両種間で長さが大きく異なっているうえ塩基配列のホモロジーも認められなかった。5'上流域も種間のホモロジーは低かったが、両者の転写開始点がピリミジンrichな領域内に存在するシトシン残基であり、その上流域にTATA boxやCAAT boxが存在せず、その一方で、GC boxが複数個存在し、上流域全体にわたってGC含量およびCpGジヌクレオチドの出現頻度が高いという構造はヒトとニワトリの両方で共通していた。これらの共通構造は細胞の生存と増殖に必須のhousekeeping geneの特徴であり、ニワトリrig遺伝子もhousekeeping geneとしてヒト遺伝子と同様の発現調節を受けている可能性が考えられた。

以上の結果から、rig遺伝子のコード域は極めて強い制約下に保存され、その発現様式も種を超えて同様であることが考えられた。従ってrigが細胞の増殖に必須のhousekeeping geneであることがさらに強く示唆された。また、哺乳類で認められるrig偽遺伝子または関連配列は哺乳類、鳥類の分岐後出現したものと考えられた。

## 審 査 結 果 の 要 旨

rig (rat insulinoma gene) はラットのインスリノーマから発見された遺伝子であるが、ヒトにも存在し、ヒトの各種がん細胞でも発現することが知られている。ラットにおいては正常細胞の増殖期にもrigが発現する。rigは145コのアミノ酸からなる塩基性蛋白をコードしているが、この蛋白質は細胞増殖に必須のものと考えられている。

菅原 明は、鳥類や両棲類においてもrigが存在するか否か、存在するとすれば哺乳類のrigとの異同はどうであるか、について研究し、rigの分子進化の実態を解明しようとした。

鳥類はニワトリを、両棲類はアフリカツメガエルを用いた。鳥類においてもrigは存在し、そのコードする蛋白は145アミノ酸残基からなり、哺乳類のそれと完全に一致した。カエルにおいては6残基が異なるのみであった。rigは進化上殆んど変化していないことが分った。

rig遺伝子を種々の制限酵素で切断して分析した。rigは、哺乳類においては偽遺伝子を含む multicopy gene familyを形成しているのに対し、鳥類および両棲類ではsingle copy geneとして存在していた。

ヒトとニワトリのrigはともに4コのエクソンと3コのイントロンから構成されており、エクソン部分はヒトとニワトリで殆んど同一であるが、イントロン部分は両種間で大きく異っていた。

以上の結果からrigは極めて強い制約下に保存されてきたものであり、細胞の増殖に必須の housekeeping geneであることが明らかとなった。

この菅原 明の研究は、rigの系統的進化の過程を究明し盡したものと評価することができる。菅原 明はこの研究を通して一流の生化学者、遺伝学者のレベルに達した。よってこの論文は学位に相当するものと考えられる。